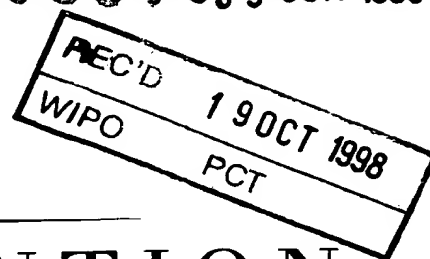


097 50867009 OCT. 1998

INPI

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

PRIORITY DOCUMENT



BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 06 OCT. 1998

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

CERTIFIED COPY OF
PRIORITY DOCUMENT
CERTIFIED COPY OF
PRIORITY DOCUMENT

Martine PLANCHE

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE

26 bis, rue de Saint Petersburg
75800 PARIS Cédex 08
Téléphone : 01 53 04 53 04
Télécopie : 01 42 93 59 30

This Page Blank (uspto)

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08
Téléphone : (1) 42.94.52.52 Télécopie : (1) 42.93.59.30

Confirmation d'un dépôt par télécopie ☐

Cet imprimé est à remplir à l'encre noire en lettres capitales

Réserve à l'INPI

DATE DE REMISE DES PIÈCES **01. OCT. 1997**
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL **97 12227 -**
DÉPARTEMENT DE DÉPÔT **75**
DATE DE DÉPÔT **01 OCT. 1997**

1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE
À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE

CABINET BEAU DE LOMENIE
158, rue de l'Université
75340 PARIS CEDEX 07

2 DEMANDE Nature du titre de propriété industrielle

☒ brevet d'invention ☐ demande divisionnaire
☐ certificat d'utilité ☐ transformation d'une demande de brevet européen

☐ demande initiale
☐ brevet d'invention

n° du pouvoir permanent références du correspondant téléphone
H19103-64/GPO 01.44.18.89.00.

Établissement du rapport de recherche

☐ différé ☒ immédiat

Le demandeur, personne physique, requiert le paiement échelonné de la redevance

☐ oui ☐ non

Titre de l'invention (200 caractères maximum)

"Utilisation de l'acide ellagique, de ses sels, de ses complexes métalliques, de ses dérivés mono- ou poly-éthers, mono- ou poly-acylés dans le domaine de la cosmétique et de la pharmacie, notamment de la dermatologie"

3 DEMANDEUR (S)

n° SIREN

code APE-NAF

Nom et prénoms (souligner le nom patronymique) ou dénomination

LVMH RECHERCHE

Forme juridique

Groupement d'Intérêt Economique

Nationalité (s)

Française

Adresse (s) complète (s)

25, Rue des Peupliers
92752 NANTERRE

Pays

FR

En cas d'insuffisance de place, poursuivre sur papier libre ☐

4 INVENTEUR (S) Les inventeurs sont les demandeurs

☐ oui ☒ non Si la réponse est non, fournir une désignation séparée

5 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES

☐ requise pour la 1ère fois ☐ requise antérieurement au dépôt ; joindre copie de la décision d'admission

6 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE

pays d'origine

numéro

date de dépôt

nature de la demande

7 DIVISIONS antérieures à la présente demande n°

date

n°

date

8 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE

(nom et qualité du signataire - n° d'inscription)

Gérard PORTAL
Conseil en Propriété Industrielle
B.I. - N° 92 1203
Cabinet BEAU DE LOMENIE

SIGNATURE DU PRÉPOSÉ À LA RÉCEPTION

SIGNATURE APRES ENREGISTREMENT DE LA DEMANDE À L'INPI

DIVISION ADMINISTRATIVE DES BREVETS

26bis, rue de Saint-Petersbourg
75800 Paris Cédex 08
Tél. : (1) 42 94 52 52 - Télécopie : (1) 42 93 59 30

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL

97 12 227

TITRE DE L'INVENTION : "Utilisation de l'acide ellagique, de ses sels, de ses complexes métalliques, de ses dérivés mono- ou poly-éthers, mono- ou poly-acylés dans le domaine de la cosmétique et de la pharmacie, notamment de la dermatologie"

LE (S) SOUSSIGNÉ (S) **LVMH RECHERCHE**
Groupeement d'Intérêt Economique

DÉSIGNE (NT) EN TANT QU'INVENTEUR (S) (indiquer nom, prénoms, adresse et souligner le nom patronymique) :

1. **BONTE Frédéric**
54, Rue Tudelle
45100 ORLEANS
FRANCE

2. **SAUNOIS Alex**
2, Rue Daniel Mayer
45000 ORLEANS
FRANCE

NOTA : A titre exceptionnel, le nom de l'inventeur peut être suivi de celui de la société à laquelle il appartient (société d'appartenance) lorsque celle-ci est différente de la société déposante ou titulaire.

Date et signature (s) du (des) demandeur (s) ou du mandataire **Paris, le 1er Octobre 1997**

Gérard PORTAL
Conseil en Propriété Industrielle
B.I. - N° 92 1203
Cabinet BEAU DE LOMENIE

DOCUMENT COMPORTANT DES MODIFICATIONS

PAGE(S) DE LA DESCRIPTION OU DES REVENDI- CATIONS OU PLANCHE(S) DE DESSIN			R.M.*	DATE DE LA CORRESPONDANCE	TAMPON DATEUR DU CORRECTEUR
Modifiée(s)	Supprimée(s)	Ajoutée(s)			
20			X	25 FEV 1998	HL J - 27 FEV. 1998

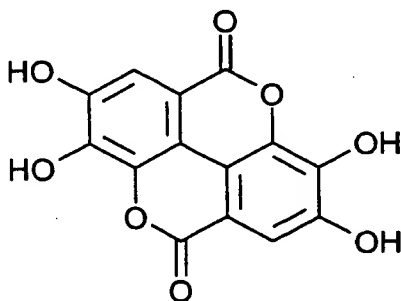
Un changement apporté à la rédaction des revendications d'origine, sauf si celui-ci découle des dispositions de l'article 28 du décret du 19 septembre 1979, est signalé par la mention "R.M." (revendications modifiées).

La présente invention concerne essentiellement une nouvelle utilisation
5 de l'acide ellagique, de ses sels, de ses complexes métalliques, de ses dérivés
mono- ou poly-éthers, mono- ou poly-acylés dans le domaine de la cosmétique ou
de la pharmacie, notamment en dermatologie.

L'acide ellagique, également dénommée : 2,3,7,8-tétrahydroxy(1)-
benzopyrano(5,4,3-cde)(1)benzopyran-5,10 dione est une molécule bien connue
10 appartenant au groupe des polyphénols et présente dans le règne végétal. On
pourra se reporter à la publication du Merck Index 20^{ème} édition (1996), n°3588.

On connaît par le document FR-A-1 478 523 un procédé de purification
de l'acide ellagique ainsi que les acides ellagiques purifiés obtenus par un tel
procédé.

15 L'acide ellagique présente la formule chimique suivante :



qui comporte quatre cycles accolés.

L'acide ellagique est disponible dans le commerce notamment auprès de
20 la société Extra Synthèse, France.

Le document EP-A-0 496 173 décrit des extraits de noix d'Alep
contenant de l'acide ellagique en combinaison avec de l'acide gallique et des
tanins hydrolysables ainsi qu'une application en cosmétique comme filtre
protecteur des ultra-violets B et pour un rôle préventif contre les effets nocifs des
25 radicaux libres, responsables du vieillissement cutané.

Par ailleurs, on sait que le collagène de type VII, ci-après désigné par
collagène VII, est le constituant prédominant des fibrilles d'ancrage, associées à la
membrane basale, reliant l'épiderme au derme. Il est synthétisé par les

kératinocytes de la couche basale de l'épiderme, et, en quantité moindre, par les fibroblastes du derme comme décrit par R. Burgeson dans une publication intitulée : "Type VII collagen, anchoring fibrils, and epidermolysis bullosa", J.Invest.Dermatol, (1993) 101,252-255. On pourra également se reporter à la publication de A. Koenig et al., dans J. Invest. Dermatol. (1992) 99 808-812. A ce propos, on notera que, selon des études récentes, des applications topiques d'acide rétinolique augmentaient le nombre de fibrilles d'ancrage sur des peaux ayant subi un vieillissement actinique (Woodley D.T. et al., J. Amer. Med. Assoc. (1990) 263, 3057-9). Or, l'acide rétinolique, ou trétinoïne, est reconnu comme étant l'un des agents anti-rides les plus performants (L.H. Kligman, Cutis (1988) 41 (6) 419-20 ; J.J. Leyden et al., J. Am. Acad. Dermatol. (1989) 21 (3Pt 2) 638-44 ; J.H. Saurat, Horm. Res. (1995) 43 (1-3) 89-92)

D'après la publication de Y.Q. Chen, A.Mauviel, J.Ryynanen, S.Sollberg, J.Uitto ("Type VII collagen gene expression by human skin fibroblasts and keratinocytes in culture : Influence of donor age and cytokine responses" J.Invest.Dermatol, (1994) 102, 205-209), certaines manifestations du vieillissement cutané, telles qu'une fragilité cutanée accrue et une diminution des capacités de réparation de l'épiderme, pourraient être attribuables à une diminution de la synthèse du collagène VII chez les sujets âgés. On notera que l'expression "fragilité cutanée" recouvre en particulier l'apparition de cloques au niveau sub-basal.

Il a été décrit par M. Akiyama et al. dans J. Invest. Dermatol. (1995) 105 844-850, que le collagène, en particulier le collagène VII, jouait un rôle important au niveau du follicule pileux humain, notamment au niveau des membranes basales de la matrice (zone péripapillaire) et au niveau de la membrane basale du bulge (renflement de la partie haute du bulbe). Ces deux zones contiennent des cellules à fort potentiel mitotique, en particulier des kératinocytes donnant naissance à la tige pileuse.

Enfin, il est également connu que la cohésion derme-épiderme est primordiale pour que les populations basales des kératinocytes épidermiques aient un métabolisme optimal. Une bonne cohésion leur permettant, de ce fait et en particulier, d'assurer la formation d'une couche cornée de bonne qualité, élastique et bien formée avec une hydratation interne optimale qui respecte les fonctionnalités des couches cellulaires. Une bonne cohésion derme-épiderme

participe ainsi à la formation et à l'entretien d'une peau au métabolisme équilibré en lui donnant notamment un bon aspect esthétique.

Dans le cadre de la présente invention, il a été découvert de manière surprenante que l'acide ellagique, ses sels, ses complexes métalliques, ses dérivés
5 mono- ou poly-éthers, mono- ou poly-acylés permettaient d'augmenter significativement le taux de collagène VII dans un milieu où sont présents des kératinocytes humains normaux.

Cette constatation a conduit à la mise au point d'une nouvelle composition cosmétique, pharmaceutique, notamment dermatologique, plus
10 particulièrement utile dans toutes les applications où l'on cherche à obtenir une augmentation du taux de collagène VII, en vue et en particulier, d'une part, de favoriser la cohésion entre le derme et l'épiderme, et d'autre part, au niveau des follicules pileux du cuir chevelu, de contribuer à la restauration ou au maintien de la fonctionnalité des cellules, en particulier des kératinocytes. Cette propriété s'est
15 avérée particulièrement utile pour l'élaboration de compositions topiques, cosmétiques ou dermatologiques.

De telles compositions permettent, en particulier, de favoriser la cohésion entre le derme et l'épiderme chez les personnes présentant une peau atone ou relâchée. Elles peuvent également être utiles pour les soins capillaires
20 pour améliorer l'état de la chevelure, pour favoriser la croissance de cheveux de bonne qualité ou pour ralentir ou retarder la chute des cheveux. Elles permettent aussi de traiter les pathologies s'accompagnant d'une déficience de la jonction dermo-épidermique, telle que l'épidermolyse bulleuse.

Ainsi, selon un premier aspect, l'invention concerne l'utilisation de
25 l'acide ellagique, de ses sels, de ses complexes métalliques, de ses dérivés mono- ou poly-éthers, mono- ou poly-acylés comme agent cosmétique pour améliorer la cohésion entre le derme et l'épiderme par le renforcement de la jonction dermo-épidermique, ledit agent étant de préférence incorporé dans une composition cosmétique comprenant un véhicule cosmétiquement acceptable.

30 Selon un deuxième aspect, la présente invention couvre aussi l'utilisation de l'acide ellagique, de ses sels, de ses complexes métalliques, de ses dérivés mono- ou poly-éthers, mono- ou poly-acylés comme agent cosmétique destiné à augmenter le taux de collagène VII, ledit agent étant de préférence

incorporé dans une composition cosmétique comprenant un véhicule cosmétiquement acceptable.

Dans le cadre de l'invention, il a été en effet mis clairement en évidence de manière surprenante que l'acide ellagique, ses sels, ses complexes
5 métalliques, ses dérivés mono- ou poly-éthers, mono- ou poly-acylés agissent en augmentant le taux de collagène VII.

Ainsi, les compositions de l'invention s'avèrent particulièrement utiles dans toutes les applications où l'on cherche à améliorer la cohésion entre le derme et l'épiderme.

10 Dans le cadre de l'invention, les sels de l'acide ellagique comprennent en particulier les sels métalliques, notamment alcalins ou alcalino-terreux, tels que le sodium et le calcium, les sels d'amines tels que les sels de méthylglutamine, de diéthanolamine, de triéthanolamine, de choline, de bis-triéthylamine, les sels
15 d'acides aminés notamment les sels d'acides aminés basiques tels que l'arginine, la lysine et l'ornithine, les complexes métalliques comprennent en particulier des complexes métalliques avec le zinc et le cuivre et les dérivés mono- ou poly-acylés comprennent en particulier des groupes acyles, saturés ou insaturés, ayant de 2 à 22 atomes de carbone. De préférence, ces groupes acyles correspondent aux
20 acides acétique, palmitique, oléique, linoléique, linolénique, arachidonique, stéarique, brassidique, érucique, béhénique et (all Z)-5,8,11,14,17-eicosapentaénoïque. Les dérivés mono- ou poly-éthers précités sont en particulier des dérivés alcoxy comprenant de 1 à 4 atomes de carbone, ou bien des dérivés de condensation de l'un ou de plusieurs groupes hydroxy de l'acide ellagique avec un
25 sucre ou une chaîne de sucres. En particulier, il s'agit de l'acide 3-méthoxy ellagique ou des dérivés mono- ou poly-éthers avec les sucres tels que le glucose, l'arabinose, le rhamnose et le galactose.

Les dérivés éthers ou acylés précités peuvent être obtenus par des procédés d'éthérification ou d'acylation des polyphénols bien connus de l'homme de l'art. Certains peuvent également être obtenus par extraction à partir de plantes.

30 En outre, l'acide ellagique, ses sels complexes métalliques, ses dérivés mono- ou poly-éthers, mono- ou polyacylés seront particulièrement destinés à obtenir un raffermissement de la peau, à prévenir ou à retarder l'apparition des signes du vieillissement cutané, à retarder l'apparition des rides ou à diminuer leur profondeur, à améliorer l'état de la chevelure.

L'invention vise ainsi en particulier des produits anti-rides, des produits destinés à combattre le vieillissement cutané et en particulier le vieillissement naturel cutané, et le relâchement de la peau ou d'une lotion de soin capillaire, telle qu'une lotion "anti-chute" des cheveux.

5 L'invention permet par voie de conséquence de préparer des compositions cosmétiques particulièrement intéressantes pour lutter contre le vieillissement cutané, en particulier contre le vieillissement actinique de la peau, c'est-à-dire le vieillissement induit par les rayonnements, en particulier le rayonnement solaire, tout particulièrement le rayonnement solaire ultraviolet.

10 De façon générale, les compositions cosmétiques de l'invention s'avèrent particulièrement utiles en tant que produit raffermissant de la peau destiné, en particulier, à lutter contre les peaux relâchées ou atones.

Selon un troisième aspect, l'invention concerne également l'utilisation de l'acide ellagique, de ses sels, de ses complexes métalliques, de ses dérivés mono-
15 ou poly-éthers, mono- ou polyacylés pour la préparation d'une composition pharmaceutique, notamment dermatologique, destinée à traiter les pathologies liées à une déficience de la cohésion entre le derme et l'épiderme, en particulier celles liées à un affaiblissement de la jonction dermo-épidermique, telle que l'épidermolyse bulleuse, ou destinée à traiter les manifestations ou les pathologies
20 liées à une insuffisance du taux de collagène VII.

Par ailleurs, les compositions dermatologiques de l'invention pourront être également avantageusement utilisées comme composition cicatrisante dans le traitement des blessures, éventuellement en complément de traitements thérapeutiques locaux, en particulier pour améliorer la qualité de la peau pendant
25 et après la cicatrisation.

Les compositions cosmétiques ou pharmaceutiques, notamment dermatologiques de l'invention, contiendront avantageusement de 0,0001 % à 5 %, de préférence entre 0,01 et 1 % en poids de l'acide ellagique, de ses sels, de ses complexes métalliques, de ses dérivés mono- ou poly-éthers, mono- ou poly-
30 acylés par rapport au poids total de la composition.

Les compositions de l'invention pourront comprendre, en outre avantageusement, au moins une substance favorisant la synthèse des constituants de la matrice extra-cellulaire de la peau, et/ou régulant la formation d'une couche cornée de bonne qualité.

A titre d'exemple de telles substances, on citera les vitamines, en particulier les vitamines du groupe A et C et leurs dérivés tels que les esters, les tocophérols, les xanthines, en particulier la caféine ou la théophylline, les rétinoides, en particulier la vitamine A acide, les extraits de *Centella asiatica*, les
 5 acides asiatiques, madécassiques et leurs dérivés glycosylés tels que l'asiaticoside ou le madécassoside, les extraits de *Siegesbeckia orientalis*, les extraits de *Commiphora mukul* et les extraits d'*Eriobotrya japonica*, des éléments minéraux, de préférence le magnésium, le manganèse, le silicium et le zinc, ces éléments
 10 minéraux étant utilisés avantageusement sous forme de chlorure pour le magnésium et le manganèse, sous forme de silanol pour le silicium et sous forme d'aspartate pour le magnésium.

Par ailleurs, la composition selon l'invention peut contenir, en outre, au moins une substance choisie parmi le groupe consistant des alpha-hydroxy-acides aliphatiques en C_3-C_{12} , en particulier l'acide citrique, l'acide malique et l'acide
 15 lactique, les acides aminés, en particulier l'arginine, la citrulline et la thréonine, les céramides, les glycocéramides, les phospholipides, les agents amincissants, la forskoline, les extraits de *Coleus*, les extraits de *Tephrosia*, les agents anti-vergetures, en particulier les extraits de Marron d'Inde et l'escine, les agents protégeant ou améliorant la microcirculation, en particulier les bioflavonoïdes de
 20 *Ginkgo Biloba*, et les filtres solaires, en particulier les oxydes de titane, le méthoxy-cinnamate d'acyle (Parsol MCX®) et les filtres d'origine végétale.

Dans les compositions de l'invention plus particulièrement destinées au traitement et au soin des cheveux, l'acide ellagique, ses sels, ses complexes métalliques, ses dérivés mono- ou poly-éthers, mono- ou poly-acylés sera
 25 avantageusement associé à au moins un autre principe actif choisi parmi le groupe constitué par les agents anti-pelliculaires, tels que les extraits d'*Arctium lappa*, le chloroxylénol, le résorcinol ou la pyrithione de zinc, les agents anti-séborrhéiques tels qu'un inhibiteur de 5α -réductase, en particulier un extrait de *Pygeum africanum* et les agents stimulant la microcirculation sanguine tels que la
 30 cépharanthine et le nicotinate de méthyle.

Diverses formes de formulations peuvent être réalisées. L'une des formes les plus utilisées est une forme topique adaptée pour être appliquée sur le tissu cutané. Ces formulations topiques appropriées incluent, sans limitation, des

émulsions, des crèmes, des laits, des baumes, des gels, des lotions ainsi que des compositions de maquillage traitantes.

L'invention concerne également selon d'autres aspects un procédé de traitement cosmétique ou pharmaceutique, notamment dermatologique, selon lequel on cherche à obtenir une augmentation du taux de collagène VII.

L'invention concerne aussi en particulier un procédé de traitement cosmétique destiné à obtenir une amélioration de la cohésion entre le derme et l'épiderme, en particulier par un renforcement de la jonction dermo-épidermique, à obtenir un raffermissment de la peau, à prévenir ou à retarder l'apparition des signes du vieillissement cutané, à retarder l'apparition des rides ou à diminuer leur profondeur, à améliorer l'état de la chevelure, caractérisé en ce qu'il consiste à délivrer une quantité cosmétiquement efficace de l'acide ellagique, de ses sels, de ses complexes métalliques, de ses dérivés mono- ou poly-éthers, mono- ou poly-acylés, éventuellement contenu dans un excipient cosmétiquement acceptable.

Naturellement, des modes de réalisations, en particulier de ce procédé, résultent de la description précédente relativement aux compositions.

Enfin, selon un dernier aspect, l'invention concerne également un procédé de traitement de cellules en culture, en particulier de kératinocytes humains ou de fibroblastes humains, comprenant une culture desdites cellules dans un milieu de culture, caractérisé en ce qu'il consiste à introduire dans le milieu de culture une concentration efficace de l'acide ellagique, de ses sels, de ses complexes métalliques, de ses dérivés mono- ou poly-éthers, mono- ou poly-acylés pour obtenir une augmentation du taux de collagène VII dans la culture.

Suivant une variante préférée de mise en oeuvre de ce procédé, on introduit l'acide ellagique, ses sels, ses complexes métalliques, ses dérivés mono- ou poly-éthers, mono- ou poly-acylés à une concentration comprise entre 0,0001 % et 1 % en poids par rapport au poids total du milieu de culture.

L'invention couvre également, à titre de produit nouveau, un milieu de culture de cellules, en particulier de cellules de kératinocytes humains ou de fibroblastes humains, caractérisé en ce qu'il comprend une concentration efficace d'acide ellagique, de ses sels, de ses complexes métalliques, de ses dérivés mono- ou poly-éthers, mono- ou poly-acylé pour obtenir une augmentation du taux de collagène VII dans la culture. Selon une réalisation préférée de ce milieu de

culture de cellules, la concentration précitée est comprise entre 0,0001 % et 1 % en poids par rapport au poids total dudit milieu de culture.

5 D'autres buts, caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront clairement à l'homme de l'art, à partir de la description explicative qui va suivre faite en référence à plusieurs exemples de réalisation donnés simplement à titre d'illustration et qui ne sauraient en aucun cas limiter la portée de l'invention. Les exemples font partie intégrante de l'invention. D'autre part, dans les exemples qui suivent, les pourcentages sont indiqués en poids, les températures sont en degrés celsius, la pression est la pression atmosphérique sauf indication contraire.

10

EXEMPLES DE L'INVENTION

Exemple 1

15 Mise en évidence de l'activité de l'acide ellagique sur l'augmentation du taux de collagène VII dans une culture de kératinocytes humains normaux.

Le test ci-dessous a été réalisé à partir d'acide ellagique disponible chez Extra Synthèse, France, sous forme de poudre ayant un point de fusion supérieur à 360°C.

20 Les tests ont été réalisés en aveugle sur des kératinocytes humains normaux.

1 - Protocole du test

25 a) Provenance des kératinocytes :

Les cultures de kératinocytes humains normaux (KHN) sont établies à partir d'un prélèvement chirurgical de peau saine. Dans la présente étude, les tests ont été réalisés sur deux souches cellulaires provenant d'un lifting respectivement d'une femme caucasienne de 49 ans, noté KHN 1124, et d'une femme caucasienne de 50 ans, noté KHN 1106.

30

b) Conditions de culture :

Les kératinocytes sont maintenus dans le milieu SFM (Serum Free Medium) complet (noté SFMc, GIBCO). Les cellules ont été sous-cultivées une

ou deux fois à partir de la primoculture (soit un passage, noté P1 ou deux passages noté P2), avant leurs utilisations pour le test.

c) Conditions de traitement :

5 L'ensemencement des cellules est réalisé en plaque de culture à 96 puits à raison de 25 000 KHN par puits dans le milieu SFMc. Après 24 h d'incubation nécessaire à la bonne adhérence des cellules, le milieu est remplacé par un milieu SFMc dilué à 2 %, limitant la prolifération des kératinocytes pendant le test . La
10 milieu d'étude, obtenue extemporanément à partir d'une solution-mère d'acide ellagique dans le DMSO à 0,5 mg par ml. La concentration finale de DMSO dans le milieu d'étude est donc de 0,1 % V/V_{final}. Cette concentration n'est pas toxique pour les cellules. Le témoin est constitué du milieu d'étude SFMc dilué à 2 % ajouté de 0,1 % de DMSO en V/V. Six cultures sont réalisées respectivement pour
15 le produit testé et pour l'essai témoin.

Les cellules sont mises au contact du milieu de traitement pendant 72 h.

Les surnageants d'incubation sont prélevés en vue du dosage du collagène VII. Un dosage des protéines est effectué sur le tapis cellulaire restant dans les puits (méthode BCA, SIGMA), dans le but de rapporter les quantités de collagène
20 VII aux taux de protéines cellulaires.

Une plaque traitée parallèlement est utilisée pour le test de viabilité XTT en utilisant le kit XTT de Boehringer référence 146 50 15, pour mesurer l'activité déshydrogénase mitochondriale des cellules viables. Aucune baisse significative de la viabilité n'a été détectée par ce test ainsi que par l'observation
25 microscopique des cellules à la concentration testée de 0,5 µg (microgrammes) par ml.

d) Dosage ELISA du collagène VII :

Le protocole de dosage du collagène VII par une méthode ELISA a été
30 adapté à partir de celui utilisé pour le dosage du collagène I (M. DUMAS, C. CHAUDAGNE, F. BONTE, A. MEYBECK : "In vitro biosynthesis of type I and III collagens by human dermal fibroblasts from donors of increasing age", Mechanisms of Ageing and Development, 73 (1994) 179-187).

Les modifications suivantes ont été apportées :

- 1er anticorps : Anticorps monoclonal de souris anti-collagène type VII humain, isotype IgG1 (Life Technologies, Réf. 12073-011, Lot FB2b01).

- 2ème anticorps : Anticorps de chèvre anti-IgG totaux de souris, couplé à la phosphatase alcaline (Interchim, Réf. 115-056-062, Lot 26793).

L'activité phosphatase alcaline est révélée par le substrat para-nitro-phényle-phosphate (PNPP) clivé par l'enzyme en para-nitro-phénol, dont l'absorbance est mesurée à 405 nanomètres.

10 e) Expression des résultats et interprétation statistique :

Les résultats de l'augmentation du taux de collagène VII dans la culture de kératinocytes sont exprimés en Activité de l'acide ellagique, noté A, où A est exprimé en pourcentage et correspond à la formule suivante :

$$15 \quad A = \left(\frac{DOR_{Cae} - DOR_{Cs}}{DOR_{Cs}} \right) \times 100$$

où :

- L'indice "ae" correspond aux valeurs liées à une culture de kératinocytes faite en présence d'acide ellagique.

20 - L'indice "ks" correspond aux valeurs liées à une culture de kératinocytes faite en l'absence d'acide ellagique, également nommée culture témoin.

- DOR correspond à la densité optique réduite :

$$DOR = (DO - DO_{Blanc})$$

25

- DO correspond à une densité optique mesurée suite au traitement d'un surnageant.

- DO_{Blanc} correspond à la densité optique mesurée sur le milieu de culture.

30 - DORC correspond à une DOR corrigée pour correspondre à une densité optique correspondant à 100 µg de protéines cellulaires dosées sur le puits correspondant.

Les résultats obtenus sur les cultures traitées (n=6) et témoins (n=6) sont comparés par le test de Student non apparié, le seuil de significativité retenu étant $p < 0,05$.

L'activité du produit selon l'invention, à savoir l'acide ellagique, sur le taux de collagène VII dans le milieu de culture a ainsi fait l'objet d'un essai sur les deux souches différentes de kératinocytes précédemment indiquées, référencées KHN 1124 (P2) et KHN 1106 (P1).

2) Résultats - Conclusion

Les résultats sont donnés dans le tableau 1 ci-dessous, à partir de la moyenne des mesures sur les différentes cultures :

TABLEAU 1

ACTIVITE DE L'ACIDE ELLAGIQUE SUR LE TAUX DE COLLAGENE VII

Souches de kératinocytes	Concentration en acide ellagique ($\mu\text{g/ml}$)	DORC pour 72 h d'incubation	p (test t) par rapport à la culture témoin	A pour 72 h d'incubation
KHN 1124P2 (F 49 ans, lifting)	0	0,773 +/- 0,023		
	0,5	1,098 +/- 0,100	0,0003	+ 42 %
KHN 1106P1 (F 50 ans, lifting)	0	0,950 +/- 0,180		
	0,5	1,563 +/- 0,240	0,0007	+ 64 %

Les résultats figurant au tableau 1 montrent une augmentation importante et significative du taux de collagène VII présent dans les milieux de culture, due à la présence de l'acide ellagique selon l'invention à une concentration de 0,5 $\mu\text{g/ml}$.

Le collagène VII étant notamment le constituant principal des fibrilles d'ancrage, il ressort clairement de ce test que l'acide ellagique ainsi que ses dérivés, selon l'invention, peuvent être avantageusement utilisés comme agent

pour renforcer la jonction dermo-épidermique, et améliorer ainsi la cohésion entre le derme et l'épiderme. L'acide ellagique et ses dérivés, selon l'invention, peuvent donc être avantageusement utilisés dans des compositions cosmétiques "anti-rides", anti-vieillessement", "raffermissantes" ainsi que dans des compositions dermatologiques pour lutter contre l'épidermolyse bulleuse.

Il est, par ailleurs, connu que le collagène VII joue un rôle important au niveau du follicule pileux humain, d'où il ressort compte tenu des résultats expérimentaux ci-dessus, un grand intérêt de l'acide ellagique et de ses dérivés, selon l'invention, pour le soin des cheveux, et, d'une manière générale, pour l'amélioration de l'état de la chevelure.

Exemple 2 de l'invention

Composition de soins cosmétiques raffermissants :

- Acide ellagique disponible dans le commerce chez Extra Synthèse, France : ... 0,01 g
- Extrait de Centella asiatica : ... 0,1 g
- Excipient émulsionné sous forme d'émulsion huile-dans-eau, parfumé et conservateur : ... QSP 100 g

Cette composition combat le relâchement de la peau, et restaure sa fermeté. Elle peut être avantageusement utilisée par cures de 3 semaines en applications sur les zones du corps à traiter où la peau est relâchée.

Exemple 3 de l'invention

Emulsion dite "anti-âge"

- Acétate d'acide ellagique ... : 0,02 g
- Palmitate de vitamine A ... : 0,01 g
- Excipient émulsionné fluide parfumé ... : QSP 100 g

Cette émulsion peut être utilisée sur les zones du corps à traiter, en particulier sur le visage, de préférence tous les soirs. Cette émulsion contribue à retarder l'apparition des signes du vieillissement de la peau tels que les rides ou le relâchement cutané. Après un traitement quotidien de 6 mois environ, la peau devient plus lisse, plus souple et plus ferme. Elle reprend son éclat.

Exemple 4 de l'inventionEmulsion cosmétique raffermissante et "anti-vieillessement".

Cette émulsion est préparée à partir des 3 phases A, B, C suivantes :

5 Phase A

	- Emulgade SE [®] (1)	... : 6 g
	- Alcool de cétyle	... : 2 g
	- BHT	... : 0,02 g
	- Isononyl isononanoate	... : 6 g
10	- Propylparabène	... : 0,02 g
	- Cocoglycérides	... : 6 g
	- Centella asiatica	... : 0,1 g

Phase B

15	- Méthylparabène	... : 0,2 g
	- Eau distillée	... : 67,64 g

Phase C

	- Acide ellagique	... : 0,01 g
20	- Butylène glycol	... : 12 g
	- Palmitate de vitamine A	... : 0,01 g.

(1) L'Emulgade SE[®] est une composition de la société HENKEL, mélange de :
glyceryl stearate (et) cetearéth-20 (et) cetearéth-10 (et) cetearyl alcohol (et) cetyl
25 palmitate.

La phase C est d'abord préparée en faisant subir un traitement aux ultrasons au mélange d'acide ellagique et de butylène glycol, et ce, pendant 15 minutes. On ajoute ensuite le palmitate de vitamine A.

30 La phase grasse A et la phase aqueuse B sont chauffées ensemble à 85°C. A 85°C, on émulsionne la phase B sur la phase A par agitation mécanique. L'agitation est maintenue alors que l'on refroidit l'émulsion obtenue jusqu'à 45°C, température à laquelle l'agitation est maintenue pendant 45 minutes.

On rajoute la phase C à l'émulsion phase A - phase B qui est maintenue à 45°C et qui subit une agitation. Cette agitation est maintenue pendant 5 minutes après l'ajout de la phase C.

- 5 Cette émulsion peut être utilisée sur les zones du corps à traiter, en particulier sur le visage, de préférence tous les soirs. Cette émulsion contribue à retarder l'apparition des signes du vieillissement cutané, tels que les rides, réduire la profondeur de ces dernières ou lutter contre le relâchement cutané. Après un traitement quotidien de six mois environ, la peau devient plus lisse, plus souple et plus ferme.

10

Exemple 5 de l'invention

Emulsion cosmétique raffermissante et "anti-vieillessement".

Cette émulsion est préparée avec les composés suivants :

15	- Eau distillée	... : 67,53 g
	- Butylène glycol	... : 12,00 g
	- Emulgade SE®	... : 6,00 g
	- Isononyl isononanoate	... : 6,00 g
	- Cocoglycérides	... : 6,00 g
20	- Alcool de cétyle	... : 2,00 g
	- Méthylparabène	... : 0,20 g
	- Centella asiatica	... : 0,10 g
	- Palmitate de vitamine A	... : 0,10 g
	- Sel de sodium de l'acide ellagique	... : 0,03 g
25	- BHT	... : 0,02 g
	- Propylparabène	... : 0,02 g

L'Emulgade SE® est une composition décrite dans l'exemple précédent.

- 30 Cette émulsion peut être utilisée sur les zones du corps à traiter, en particulier sur le visage, de préférence tous les soirs. Cette émulsion contribue à retarder l'apparition des signes du vieillissement cutané, tels que les rides, réduire la profondeur de ces dernières ou lutter contre le relâchement cutané. Après un

traitement quotidien de six mois environ, la peau devient plus lisse, plus souple et plus ferme.

Exemple 6 de l'invention

5 Préparation dermatologique gélifiée pour le traitement de l'épidermolyse bulleuse

- Complexe métallique de zinc de l'acide ellagique ... : 0,01 g
- Butylène glycol ... : 10 g
- Ethanol absolu ... : 20 g
- Eau distillée ... : 54,99 g
- 10 - Carbomer (Gel d'Ultrez®-10 de
chez GOODRICH) à 2 % ... : 15 g

On peut appliquer ce gel localement sur les zones à traiter en cas d'épidermolyse, trois fois par jour pendant au moins quinze jours.

15 Exemple 7 de l'invention

Lotion capillaire "anti-chute" et "anti-pelliculaire"

On prépare une lotion capillaire en utilisant 0,01 g de complexe de zinc de l'acide ellagique ; 0,005 g de chloroxylénol et 0,01 g de cépharantine avec un excipient alcoolique parfumé en quantité suffisante pour 100 g.

20 La lotion est utilisée par application matin et soir sur le cuir chevelu, suivi d'un léger massage. Après 8 à 15 jours de traitement, la chute des cheveux est nettement ralentie et les démangeaisons disparaissent. Les cures conseillées sont de 30 jours, espacées de 2 à 4 mois selon l'importance du problème capillaire à traiter.

25

Exemple 8 de l'invention

Emulsion cosmétique raffermissante et "anti-vieillessement"

- Acide ellagique ... : 0,50 g
- Palmitate de vitamine A ... : 0,01 g
- 30 - Centella asiatica ... : 6,00 g
- Excipient avec conservateur QSP 100,00 g

Cette émulsion peut être utilisée sur les zones du corps à traiter, en particulier sur le visage, de préférence tous les soirs. Cette émulsion contribue à retarder l'apparition des signes du vieillissement cutané, tels que les rides, à

réduire la profondeur de ces dernières ou à lutter contre le relâchement cutané. Après un traitement quotidien de six mois environ, la peau devient plus lisse, plus souple et plus ferme.

- Revendications -

1. Utilisation de l'acide ellagique, de ses sels, de ses complexes métalliques, de ses dérivés mono- ou poly-éthers, mono- ou poly-acylés comme
5 agent cosmétique pour améliorer la cohésion entre le derme et l'épiderme par le renforcement de la jonction dermo-épidermique, ledit agent étant incorporé dans une composition cosmétique comprenant un véhicule cosmétiquement acceptable.

2. Utilisation de l'acide ellagique, de ses sels, de ses complexes métalliques, de ses dérivés mono- ou poly-éthers, mono- ou poly-acylés comme
10 agent cosmétique destiné à augmenter le taux de collagène VII, ledit agent étant incorporé dans une composition cosmétique comprenant un véhicule cosmétiquement acceptable.

3. Utilisation selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que ladite composition est destinée à obtenir un raffermissment de la peau, à prévenir ou à
15 retarder l'apparition des signes du vieillissement cutané, à retarder l'apparition des rides ou à diminuer leur profondeur.

4. Utilisation selon la revendication 3, caractérisée en ce que le vieillissement cutané est le vieillissement actinique, dû en particulier à l'action du rayonnement solaire.

20 5. Utilisation selon la revendication 2, caractérisée en ce que ladite composition est une composition capillaire destinée à améliorer l'état de la chevelure.

6. Utilisation de l'acide ellagique, de ses sels, de ses complexes métalliques, de ses dérivés mono- ou poly-éthers, mono- ou poly-acylés pour la
25 préparation d'une composition pharmaceutique, notamment dermatologique, destinée à traiter les pathologies liées à une déficience de la cohésion entre le derme et l'épiderme, en particulier celles liées à un affaiblissement de la jonction dermo-épidermique.

7. Utilisation de l'acide ellagique, de ses sels, de ses complexes
30 métalliques, de ses dérivés mono- ou poly-éthers, mono- ou poly-acylés pour la préparation d'une composition pharmaceutique, notamment dermatologique, destinée à traiter les manifestations ou les pathologies liées à une insuffisance du taux de collagène VII.

8. Utilisation selon la revendication 6, caractérisée en ce que ladite composition est destinée au traitement de l'épidermolyse bulleuse.

9. Utilisation selon l'une des revendications 6 ou 7, caractérisée en ce que ladite composition est destinée au traitement des blessures en vue d'améliorer leur cicatrisation, éventuellement en complément de traitements thérapeutiques locaux, en particulier pour améliorer la qualité de la peau pendant et après la cicatrisation.

10. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisée en ce que les sels de l'acide ellagique comprennent un sel métallique, en particulier alcalin ou alcalino-terreux tel que le sodium et le calcium, les sels d'amines tels que les sels de méthylglutamine, de diéthanolamine, de triéthanolamine, de choline, de bis-triéthylamine, les sels d'acides aminés notamment les sels d'acides aminés basiques tels que l'arginine, la lysine et l'ornithine, les complexes métalliques de l'acide ellagique comprennent un complexe métallique avec le zinc et le cuivre, et les dérivés mono- ou poly-acylés comprennent des groupes acyles, saturés ou insaturés, ayant de 2 à 22 atomes de carbone, de préférence ces groupes acyles correspondent aux acides acétique, palmitique, oléique, linoléique, linolénique, arachidonique, stéarique, brassidique, érucique, béhénique et (all Z)-5,8,11,14,17-eicosapentaénoïque; les dérivés mono- ou poly-éthers précités sont des dérivés alcoxy comprenant de 1 à 4 atomes de carbone, ou bien des dérivés de condensation de l'un ou de plusieurs groupes hydroxy de l'acide ellagique avec un sucre ou une chaîne de sucres, en particulier l'acide 3-méthoxy ellagique ou ses dérivés mono- ou poly-éthers avec les sucres tels que le glucose, l'arabinose, le rhamnose et le galactose.

11. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisée en ce que ladite composition contient de 0,0001 % à 5 % et de préférence entre 0,01 % et 1 % en poids de l'acide ellagique, de ses sels, de ses complexes métalliques, de ses dérivés mono- ou poly-éthers, mono- ou poly-acylés par rapport au poids total de la composition.

12. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisée en ce que ladite composition contient en outre au moins une substance favorisant la synthèse des constituants de la matrice extra-cellulaire de la peau, et/ou régulant la formation d'une couche cornée de bonne qualité.

13. Utilisation selon la revendication 12, caractérisée en ce que ladite substance est choisie parmi le groupe constitué par les vitamines, en particulier les

vitamines du groupe A et C et leurs dérivés tels que les esters, les tocophérols, les xanthines, en particulier la caféine ou la théophylline, les rétinoïdes, en particulier la vitamine A acide, les extraits de *Centella asiatica*, les acides asiatiques, madécassiques et leurs dérivés glycosylés tels que l'asiaticoside ou le
 5 madécassoside, les extraits de *Siegesbeckia orientalis*, les extraits de *Commiphora mukul* et les extraits d'*Eriobotrya japonica*, des éléments minéraux.

14. Utilisation selon la revendication 13, caractérisée en ce que les éléments minéraux précités sont choisis parmi le magnésium, le manganèse, le silicium et le zinc, ces éléments minéraux étant avantageusement utilisés sous
 10 forme de chlorure pour le magnésium et le manganèse, sous forme de silanol pour le silicium et sous forme d'aspartate pour le magnésium.

15. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 14, caractérisée en ce que ladite composition contient en outre au moins une substance choisie dans le groupe constitué par les alpha-hydroxy-acides aliphatiques en C₃-C₁₂, en
 15 particulier l'acide citrique, l'acide malique et l'acide lactique, les acides aminés, en particulier l'arginine, la citrulline et la thréonine, les céramides, les glyco-céramides, les phospholipides, les agents amincissants, en particulier la forskoline, les extraits de *Coleus*, les extraits de *Tephrosia*, les agents anti-vergetures, en particulier les extraits de Marron d'Inde et l'escine, les agents protégeant ou
 20 améliorant la microcirculation, en particulier les bioflavonoïdes de *Ginkgo Biloba*, et les filtres solaires, en particulier les oxydes de titane, le méthoxy-cinnamate d'acyle et les filtres d'origine végétale.

16. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 15, caractérisée en ce que ladite composition contient en outre au moins un autre principe actif choisi
 25 parmi le groupe constitué par les agents anti-pelliculaires, tels que les extraits d'*Arctium lappa*, le chloroxylénol, le résorcinol ou la pyrithione de zinc, les agents anti-séborrhéiques tels qu'un inhibiteur de 5 α -réductase, en particulier un extrait de *Pygeum africanum*, et les agents stimulant la microcirculation sanguine, tels que la cépharanthine et le nicotinate de méthyle.

30 17. Procédé de traitement cosmétique destiné à obtenir une amélioration de la cohésion entre le derme et l'épiderme, en particulier par un renforcement de la jonction dermo-épidermique, à obtenir un raffermissment de la peau, à prévenir ou à retarder l'apparition des signes du vieillissement cutané, à retarder l'apparition des rides ou à diminuer leur profondeur, à améliorer l'état de la

chevelure, caractérisé en ce qu'il consiste à délivrer une quantité cosmétiquement efficace de l'acide ellagique, de ses sels, de ses complexes métalliques, de ses dérivés mono- ou poly-éthers, mono- ou poly-acylés, éventuellement contenus dans une composition comprenant un excipient cosmétiquement acceptable.

5 18. Procédé de traitement de cellules en culture, en particulier de kératinocytes humains ou de fibroblastes humains, comprenant la culture desdites cellules dans un milieu de culture, caractérisé en ce qu'il consiste à introduire dans le milieu de culture une concentration de l'acide ellagique, de ses sels, de ses complexes métalliques, de ses dérivés mono- ou poly-éthers, mono- ou poly-acylés pour obtenir une augmentation du taux de collagène VII dans la culture.

10 19. Procédé selon la revendication 18, caractérisé en ce que l'on introduit l'acide ellagique, ses sels, ses complexes métalliques, ses dérivés mono- ou poly-éthers, mono- ou poly-acylés à une concentration comprise entre 0,0001 % et 1 % en poids par rapport au poids total dudit milieu de culture.

15 20. Milieu de culture de cellules, en particulier de cellules de kératinocytes humains ou de fibroblastes humains, comprenant la culture desdites cellules dans un milieu de culture, caractérisé en ce qu'il comprend une concentration efficace d'acide ellagique, de ses sels, de ses complexes métalliques, de ses dérivés mono- ou poly-éthers, mono- ou poly-acylés pour obtenir une augmentation du taux de collagène VII dans la culture.

20 21. Milieu de culture selon la revendication 20, caractérisé en ce que la concentration efficace précitée est comprise entre 0,0001 % et 1 % en poids par rapport au poids total du milieu de culture.

chevelure, caractérisé en ce qu'il consiste à délivrer une quantité cosmétiquement efficace de l'acide ellagique, de ses sels, de ses complexes métalliques, de ses dérivés mono- ou poly-éthers, mono- ou poly-acylés, éventuellement contenus dans une composition comprenant un excipient cosmétiquement acceptable.